

ARTIGO DE REVISÃO

INDUÇÃO DE POLIPLOIDIA NO MELHORAMENTO DE PLANTAS

MARIA TERESA SCHIFINO WITTMANN¹ e MIGUEL DALL'AGNOL²

RESUMO - A poliploidia é amplamente distribuída nas plantas silvestres e cultivadas. A indução de poliploidia, como uma ferramenta para o melhoramento genético de plantas, vem sendo utilizada há mais de sete décadas. Poliplóides artificiais podem ser obtidos de duas formas: a) por duplicação somática, pela utilização de antimitóticos como colchicina e óxido nitroso, entre outros e b) por poliploidização sexual, pelo cruzamento de plantas produtoras de gametas não-reduzidos. Esta técnica continua sendo amplamente empregada no melhoramento de plantas, visando obter plantas maiores e melhores, para restaurar a fertilidade em híbridos interespecíficos e intergenéricos, e como uma ponte para a transferência gênica entre diferentes níveis de ploidia. Nesta revisão, são abordados os aspectos principais do uso da indução de poliploidia no melhoramento de plantas, desde os trabalhos iniciais, descrição das técnicas experimentais e principais resultados obtidos.

Palavras-chave: poliploidia, autopoliplóides, alopoliplóides, gametas não-reduzidos, transferência gênica

POLYPLOIDY IN PLANT BREEDING

ABSTRACT- Polyploidy is widely distributed among wild and cultivated plants. Induction of polyploidy as a tool in plant breeding has been used for more than seven decades. Artificial polyploids may be obtained by two ways: a) somatic doubling, by the utilization of an anti-mitotic as colchicine and nitrous oxide, among others and b) sexual polyploidization, by crossing plants producing unreduced gametes. This technique is nowadays widely aiming at obtaining bigger and better plants, to restore fertility interspecific or intergeneric hybrids, and as a bridge to gene transfer between ploidy levels. This revision presents the main aspects of polyploidy induction in plant breeding, from the first works, experimental techniques descriptions and the main results obtained.

Key-Words: polyploidy, autopolyploids, allopolyploids, unreduced gametes, gene transfer

¹ Bióloga, Dra., Professora Adjunta, Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Caixa Postal 15100, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS. E-mail: mtschif@ufrgs.br Autor para correspondência

² Engenheiro Agrônomo, PhD, Professor Adjunto, Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Caixa Postal 15100, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS. E-mail: miguel@d@ufrgs.br

Recebido para publicação em 15-12-2003

INTRODUÇÃO

Entende-se por poliploidia a existência, em um mesmo núcleo celular, de mais do que dois genomas. Células ou tecidos poliplóides podem ocorrer em um organismo diplóide, como na polissomatia, comum nas raízes das leguminosas. Eventualmente, indivíduos poliplóides surgem em progênies de diplóides. Uma determinada espécie pode apresentar citótipos, isto é, raças diplóides e poliplóides, assim como um gênero pode apresentar espécies com diferentes graus de ploidia. A poliploidia é muito comum nas plantas em geral, mas rara nas gimnospermas. As estimativas da frequência de espécies poliplóides nas fanerógamas variam de 30 a 35% (STEBBINS, 1971) a até mais de 70% (GOLDBLATT, 1980). De acordo com LEITCH e BENNET (1997), 95% das pteridófitas, e até 80% das angiospermas, teriam origem poliplóide. Nesta revisão serão apresentados, sucintamente, alguns aspectos gerais introdutórios sobre os poliplóides, com ênfase na utilização da poliploidia induzida no melhoramento vegetal. Os múltiplos aspectos da poliploidia são detalhadamente apresentados por STEBBINS (1971), LEWIS (1980), LEITCH e BENNET (1997), RAMSEY e SCHEMSKE (1998, 2002), SOLTIS e SOLTIS (1999), OTTO e WHITTON (2000), WENDEL (2000), WOLFE (2001), entre outros.

Tipos, modos de origem e evolução dos poliplóides

Os poliplóides são classificados, basicamente, em autopoliplóides e alopoliplóides. Os primeiros são originados pela duplicação de um mesmo genoma, e se espera alta frequência de multivalentes na meiose e herança polissômica. Os alopoliplóides, ou poliplóides genômicos, são formados pela duplicação de genomas diferentes em híbridos, o pareamento cromossômico ocorre apenas entre os cromossomos do mesmo genoma, e se espera herança dissômica. Um tipo intermediário são os poliplóides segmentares, formados pela duplicação dos genomas de espécies aparentadas, que ainda mantêm homologia suficiente entre seus cromossomos para permitir um pareamento parcial, e que podem exibir formas variadas e intermediárias de

herança, ou seja, dissômica para algumas características e polissômica para outras (STEBBINS, 1971; SYBENGA, 1992). As diferenças entre as categorias nem sempre são bem definidas, havendo, provavelmente, um gradiente entre elas. Essa classificação didática dos poliplóides é, muitas vezes, obscurecida pelas diferenças nas relações filogenéticas, e pela diferenciação cromossômica, que pode ter ocorrido ao longo da evolução entre as espécies genitoras (no caso dos alopoliplóides), e pelo processo de diploidização que tende a ocorrer após a formação dos poliplóides, ou seja, estes passam a funcionar, tanto cromossômica como geneticamente, como diplóides: o pareamento cromossômico em bivalentes e herança dissômica.

A literatura indica que espécies poliplóides naturais surgiram pela união de gametas não-reduzidos (HARLAN e DE WET, 1975; HERMSEN, 1984; RAMSEY e SCHEMSKE, 1998), muitas vezes através de uma ponte triplóide (RAMSEY e SCHEMSKE, 1998; BRETAGNOLLE, 2001). O surgimento de espécies poliplóides por duplicação somática, é considerado um evento raro e isolado, se é que realmente ocorreu na natureza (DE WET, 1980).

Poliplóides são em geral bons colonizadores, podendo ocupar habitats pioneiros aos quais os progenitores diplóides não se mostram adaptados (DE WET, 1980). O ponto de vista tradicional sobre a origem dos poliplóides era de que, após o evento de poliploidização, a nova espécie iria se expandir e colonizar novos espaços. Isto foi contestado, principalmente, pelos trabalhos de SOLTIS e SOLTIS (1995; 1999), demonstrando que muitas das espécies poliplóides conhecidas, provavelmente a grande maioria, surgiram diversas vezes ao longo da evolução, envolvendo progenitores diversos. Portanto, a origem múltipla dos poliplóides seria a regra e não a exceção. Um grande número de trabalhos, principalmente usando análises de DNA nuclear e de cloroplasto, assim como informações morfológicas, citológicas e ecológicas, confirmam a origem polifilética da maioria das espécies poliplóides (SOLTIS e SOLTIS, 1995, 1999; NELSON e ELISENS, 1999; SEGRAVES et al., 1999; SHARBEL e MITCHEL-OLDS, 2001, entre outros). Também há um consenso de que muitas das espécies consideradas como são, na verdade, paleopoliplóides, ou seja, surgiram por ciclos ante-

riores de poliploidia (LEITCH e BENNET, 1997; MURRAY, 2002). Outro aspecto inovador sobre a evolução de poliplóides foi a constatação da ocorrência de uma ampla, e muitas vezes rápida, mudança em diversos níveis do genoma (LEITCH e BENNET, 1997; SOLTIS e SOLTIS, 1999). O rearranjo genômico extensivo, que acompanha o processo de poliploidização, envolve duplicação e silenciamento gênico, evolução saltatória não-mendeliana, mudanças cromossômicas intergenômicas, invasão intergenômica, ação de transposons e estabilização citonuclear (WENDEL, 2000). A variação nova, em poliplóides, pode envolver variação na expressão gênica, alterações nas interações de regulação e efeito de dosagem gênica, interações regulatórias alteradas e mudanças genéticas e epigenéticas rápidas (OSBORN et al., 2003). A diploidização, por exemplo, seria causada pela ampla reestruturação genômica (WOLFE, 2001).

Poliploidia induzida

Cerca de 40% das espécies cultivadas são poliplóides (SIMMONDS, 1980), entre elas a alfafa, a batata, o fumo e o algodão, que são tetraplóides, as aveias tetraplóides e hexaplóides, os trigos tetraplóides (trigo duro) e hexaplóides (trigo de pão, *Triticum aestivum*) e o moranguinho octaplóide, entre outras. Entretanto, parece não haver uma relação direta entre poliploidia e domesticação (HILU, 1993).

O primeiro, e mais conhecido, poliplóide surgido por manipulação humana foi *Raphanobrassica*, um híbrido entre a couve e o rabanete. Em 1928, Karpechenko, realizando cruzamentos entre rabanete (*Raphanus sativus*) e couve (*Brassica oleracea*), espécies com $2n=18$ cromossomos, tentou obter plantas que reunissem a raiz do rabanete e as folhas da couve. Esses cruzamentos produziam sementes, mas as plantas obtidas eram estéreis. Eventualmente, houve a produção de algumas sementes, que resultaram em plantas férteis, com o dobro do número de cromossomos. Este alopoliplóide, provavelmente, surgiu por poliploidização sexual espontânea. Entretanto, apresentava a raiz da couve e as folhas do rabanete, não sendo o sucesso agrônomico esperado (GRIFFITHS et al., 2000).

Os poliplóides são, em geral, maiores e mais

robustos do que seus parentes diplóides (STEBBINS, 1971). Daí o interesse em desenvolver artificialmente plantas com estas características, normalmente não encontradas na natureza. Quando a capacidade da colchicina de inibir o fuso durante a divisão celular, levando à formação de células e plantas com o dobro do número cromossômico, foi descoberta, as possibilidades de seu uso abriram novas perspectivas para o melhoramento (BLAKESLEE e AVERY, 1937). A reação inicial do público - conforme nota do periódico no qual o artigo destes autores foi publicado - foi como se houvesse sido descoberto um elixir do crescimento, e vários jornais da época, sensacionalisticamente, alertaram para o perigo de, subitamente, surgirem ratos gigantes e lagartas carnívoras. Ao mesmo tempo, a nota do editor já registrava que, não obstante a incontestável importância da descoberta, esta não poderia ser interpretada como um caminho mágico para a produção de novas espécies de plantas e animais.

A poliploidia induzida pode ser uma poderosa ferramenta para o melhoramento genético, desde que bem empregada, e pode ser utilizada basicamente de três maneiras: (1) poliploidização na própria espécie, como um modo de se tentar conseguir plantas maiores e melhores; (2) poliploidização de um híbrido para restaurar a fertilidade do híbrido estéril, sintetizar uma nova espécie, resintetizar uma já existente ou (3) como uma ponte para transferir genes de interesse entre níveis de ploidia, na mesma ou entre espécies diferentes (DEWEY, 1980).

Duplicação somática versus poliploidização sexual

Poliplóides induzidos podem ser obtidos por via somática ou sexual. A indução de poliploidia por via somática é, basicamente, feita através da utilização de um agente inibidor do fuso. Dentre estes antimitóticos, o alcalóide colchicina é o mais conhecido e empregado. Diversos métodos de aplicação da colchicina são sugeridos e utilizados, havendo sempre necessidade de ajustes e padronizações, de acordo com a espécie com que se está trabalhando. A aplicação pode ser feita em sementes, plântulas ou partes vegetativas com tecidos meristemáticos ativos, como afilhos e estolhos,

por exemplo. O essencial é que haja tecidos em divisão, ou com alto potencial para tanto. Geralmente, concentrações próximas a 0,2% (quase sempre em solução aquosa), e tempos de exposição de 1 a 16 horas, são as que apresentam melhores resultados. A aplicação pode ser por imersão do tecido meristemático na solução, por gotejamento da solução sobre o meristema, ou por aplicação de algodão embebido na solução, diretamente sobre o ponto de crescimento (EIGSTI e DUSTIN, 1957; ELLIOTT, 1967) ou colocando a colchicina no meio de cultura *in vitro* (SILVA et al., 2000; VÄINÖLÄ, 2000; PETERSEN et al., 2002). As grandes vantagens da utilização da colchicina são sua facilidade de aplicação, relativa baixa toxicidade e eficiência na produção de poliplóides. Nem sempre todas as células do tecido tratado se poliploidizam, o que pode levar à formação de quimeras, ou seja, tecidos ou plantas com setores duplicados e outros não duplicados. Outro indutor de poliploidia, bastante utilizado e bem sucedido em espécies de *Trifolium*, é o óxido nitroso ou gás do riso. A vantagem do óxido nitroso é não ser tóxico e, uma vez removido, não produzir altas frequências de quimeras, ao menos em *Trifolium* (TAYLOR et al., 1976; TAYLOR e QUESENBERRY, 1996). O óxido nitroso é aplicado nas partes florais da planta, após a polinização, sob pressões atmosféricas mais altas, em geral de duas a dez atmosferas, por quatro a 16 horas, requerendo, para isto, câmaras de alta pressão (ÖSTERGREN, 1954, 1957). Apesar de, teoricamente, qualquer antimitótico químico poder ser utilizado, tais como paradiclorobenzeno, hidroxiquinoleína, etc... estes são muito tóxicos, o que inviabiliza seu uso. Alternativas como choques de temperatura e decapitação de brotos foram, eventualmente, utilizados (ELLIOTT, 1967). A orizalina vem sendo citada, em alguns trabalhos, como uma alternativa à colchicina, principalmente em cultura *in vitro* (VÄINÖLÄ, 2000; MORGAN et al., 2003).

A poliploidização sexual, por sua vez, baseia-se na ocorrência de gametas não-reduzidos. Estes gametas, com o número somático de cromossomos, ocorrem, normalmente, em frequências muito baixas (em torno de 1%) em populações naturais. Em alguns indivíduos, entretanto, são formados em frequências muito mais altas e é possível aumentar sua produção por seleção. Gametas não-reduzidos surgem da não redução do número cromossômico, causada por anormalidades na

meiose. A falha na redução pode ocorrer na primeira divisão meiótica - restituição na primeira divisão - se os cromossomos não se dirigem para os pólos na anáfase, ou na segunda divisão meiótica - restituição na segunda divisão - se não ocorre citocinese. A detecção citológica, no lado masculino, é facilmente realizada pela identificação de grãos diplóides maiores do que o normal, ou pela presença de díades ou tríades na telófase II (SCHIFINO-WITTMANN e DALL'AGNOL, 2001). A poliploidização sexual pode ser uni ou bilateral, ou seja, pela união de um gameta haplóide com um não reduzido, ou pela fusão de dois gametas não reduzidos. A grande vantagem da poliploidização sexual, em relação à duplicação somática, é a manutenção da heterozigose, evitando, conseqüentemente, a homozigose causada pela duplicação somática (RAMANNA, 1992; RAMSEY e SCHEMSKE, 1998). De acordo com RAMANNA e JACOBSEN (2003), a poliploidização sexual pode, muitas vezes, ser de maior relevância para o melhoramento do que a poliploidização somática.

Identificação dos poliplóides

Após a indução, é necessário verificar o sucesso do procedimento. O teste definitivo é, sem dúvida, a contagem de cromossomos. Este é um processo que demanda tempo, e, portanto, freqüentemente são sugeridas práticas alternativas. Como o aumento do volume celular é um dos primeiros efeitos da duplicação cromossômica, caracteres citológicos como tamanho das células dos estômatos, densidade de estômatos por área e diâmetro dos grãos de pólen são muito utilizados para identificar poliplóides (GRANER, 1940; BREWBAKER, 1952; EVANS, 1955; ARMSTRONG e ROBERTSON, 1960; ELLIOTT, 1967; SILVA et al., 2000; BECK et al., 2003; MORGAN et al., 2003), da mesma forma que o número de plastídios nas células dos estômatos (BINGHAM, 1968; BOAVENTURA et al., 1981). Outra alternativa é a estimativa do nível de ploidia através da determinação da quantidade de DNA nuclear, que pode ser feita por microdensitometria, ou por citometria de fluxo (SCHIFINO-WITTMANN, 2001). A citometria de fluxo vem sendo cada vez utilizada em determinações de nível de ploidia, associada à indução de poliploidia ou identificação de poliplóides espontâneos (SALON e EARLE, 1998; SÁUCO et al., 2001; MORGAN et al., 2003). Ca-

racterísticas morfológicas externas, como “gigantismo” - órgãos maiores e, em geral, mais espessos - podem auxiliar na distinção de diplóides e poliplóides (EIGSTI e DUSTIN, 1957; ELLIOT, 1967) sendo, entretanto, avaliações subjetivas e expostas a falhas freqüentes. Todos estes caracteres, que são estimativas de ploidia, freqüentemente não são precisos o suficiente, havendo a necessidade de verificação do número de cromossomos, ao menos para validar a técnica de avaliação indireta utilizada. É necessário um cuidado especial quando há formação freqüente de quimeras, pois dependendo da parte da planta analisada pode-se ter resultados diferentes, levando a conclusões errôneas.

Poliploidia e melhoramento: promessas, resultados e perspectivas

A época áurea da indução de poliploidia foi nas décadas de 30 a 70 do século XX. Muitos trabalhos foram publicados sobre poliplóides induzidos, em espécies ornamentais e frutíferas (NEBEL e RUTTLE, 1938), alfafa (COOPER, 1939; DUNBIER et al., 1975), mandioca (GRANER, 1941), trevos (LEVAN, 1942; BRAGDO, 1955; HUTTON, 1957; ARMSTRONG e ROBERTSON, 1960), *Phalaris* (COVAS e CIALZETA, 1953; ÖSTERGREN, 1957), *Phaseolus mungo* (SEN e CHHEDA, 1958), *Lolium*, (AHLOOWALIA, 1967; CROWLEY e REES, 1968), *Phlox drumondii* (RAGUVANSHI e PATHAK, 1975), *Agropyron* (ASAY e DEWEY, 1979), *Matricaria chamomilla* (MADHUSOODANA e ARORA, 1979), *Portulaca grandiflora* (SINGH, 1979) e diversas outras, como centeio, uvas, beterraba e melancia (DEWEY, 1980). Verificou-se, ao mesmo tempo, que, de maneira geral, principalmente os autopoliplóides recém-induzidos apresentavam, além de níveis variáveis de “gigantismo”, também características desvantajosas, principalmente uma diminuição da fertilidade. Sendo assim, houve uma reação de pessimismo em relação à indução de poliploidia, pois, para utilização deste material, eram necessárias grandes populações e intensa seleção. DEWEY, em 1980, examinando o que ocorreu com poliplóides induzidos, que eram considerados economicamente promissores na década de 60, como centeio, uvas e beterrabas, mostrou que nenhum destes teve o sucesso esperado a longo prazo. Mas, mesmo assim, a indução de poliploidia continuava

a ser feita em diversos países, principalmente naqueles com menores recursos econômicos. Segundo o autor, a poliploidia induzida, para o melhoramento, seria mais importante para transferir características de interesse, entre diferentes níveis de ploidia, do que para obter plantas maiores.

Como em todos os assuntos polêmicos, ou como naquelas situações em que as promessas e expectativas são muito altas e os resultados modestos, é necessário um balanço das vantagens e desvantagens e avaliação da relação custo benefício. Vários autores, desde o início da utilização desta técnica, apresentavam uma postura mais realista, apontando não só seus problemas, mas principalmente as suas possibilidades, mostrando que a poliploidia induzida pode ser utilizada como o passo inicial, e como uma ferramenta importante, em alguns programas de melhoramento (LEVAN, 1942; EIGSTI e DUSTIN, 1957; STEBBINS, 1957 e 1971; ELLIOT, 1967; SIMMONDS, 1980; EVANS, 1981).

Um dos principais obstáculos à utilização de autopoliplóides induzidos é a diminuição na fertilidade, atribuída principalmente, mas não exclusivamente, ao comportamento meiótico dos poliplóides jovens. Entretanto, RAMSEY e SCHEMSKE (2002), revisando dados da literatura, não encontraram comprovações de que a fertilidade em neoautopoliplóides seja menor do que em neoalopoliplóides. A fertilidade de um organismo está relacionada com o equilíbrio gênico, conseqüentemente com o comportamento cromossômico na meiose e, ainda, com outros fatores, genéticos, fisiológicos e ambientais, que agem na formação dos gametas, no desenvolvimento e na maturidade do indivíduo. Em gerações avançadas de autotetraplóides, muitas vezes, pode ser observada uma tendência à regularização da meiose, semelhante à diploidização dos poliplóides naturais (HAZARIKA e REES, 1967; SIMONSEN, 1973).

Um dos grandes problemas, que talvez tenha levado, durante um período, a um certo descrédito em relação à indução de poliploidia no melhoramento, é a comparação desigual entre um neopoliplóide, em suas primeiras gerações após a indução, e um progenitor, com milhões de gerações submetidas à seleção natural, o que se reflete no desempenho inferior dos poliplóides em relação aos diplóides dos quais foram derivados (EIGSTI e DUSTIN, 1957). Muitos poliplóides induzidos apresentam uma compensação ao efeito “gigas”, como

menor número de folhas e flores, desenvolvimento mais lento, etc... As características indesejáveis presentes em um neopoliplóide podem, geralmente, ser removidas por seleção em grandes populações (ELLIOTT, 1967). Diferentes tipos de plantas cultivadas respondem diferentemente à poliploidia induzida. Tanto o nível de ploidia original, como o modo de reprodução, o ciclo de vida, perene ou anual, e a parte da planta cultivada (por exemplo, se o produto final da cultura é o fruto, a semente, a flor ou a parte vegetativa) influenciam o sucesso do procedimento. Portanto, o melhorista deve considerar com cuidado as vantagens e desvantagens da utilização desta técnica em seu trabalho específico (DEWEY, 1980). Nas espécies ornamentais, principalmente as de reprodução vegetativa, a duplicação do número cromossômico é, em geral, vantajosa, pois não há uma dependência da fertilidade (ALLARD, 1999; SIMMONDS, 1980). A redução na produção de sementes pode ser compensada, por exemplo, por flores maiores e mais vistosas (EIGSTI e DUSTIN, 1957). Um exemplo de alopoliplóide artificial em culturas graníferas, relativamente bem sucedido e bastante utilizado, é o *Triticale*, resultante do cruzamento do trigo e do centeio (MÜNTZIG, 1980).

Em geral, o objetivo é alcançar o nível tetraplóide ou níveis de ploidia pares. Entretanto, triploides são usados no melhoramento exatamente por sua esterilidade, como no caso da melancia triploide, obtida pelo cruzamento de plantas diplóides com tetraploides somáticos induzidos. A sua grande vantagem é a não produção de sementes, o que atrai o consumidor. Por outro lado, o produtor fica na dependência da compra das sementes triploides, devido à necessidade contínua de refazer os cruzamentos. Muitos destes triploides podem, também, apresentar vigor híbrido e ser mais resistentes a doenças. Nos Estados Unidos, cerca de 20 a 50% da produção de melancias é de triploides (UFL, 1999).

Em plantas forrageiras, principalmente quando o interesse é a produção de forragem, a poliploidia pode ser vantajosa, como nos autotetraploides de *Lolium perenne* e *Lolium multiflorum* e nos alopoliplóides de *Lolium x Festuca* (CARNAHAN e HILL, 1961; EVANS, 1981). Entre as leguminosas forrageiras, um bom exemplo é o trevo vermelho, *Trifolium pratense* (TAYLOR e QUESENBERRY, 1996). Nesta espécie, vários trabalhos demonstraram que, em mui-

tos casos, os autotetraploides são mais persistentes, produtivos e resistentes a doenças. A diminuição da fertilidade, refletida pela baixa produção de sementes, pode ser superada por seleção. Na Suécia, até 50% da produção de semente certificada de trevo vermelho é oriunda de autotetraploides, que, de maneira geral, são mais bem sucedidos e cultivados na Europa do que na América. Isto, muito provavelmente, deve-se ao fato de que os melhoristas europeus vêm trabalhando há muito mais tempo com indução de poliploidia em trevo vermelho do que os pesquisadores americanos. Aparentemente, é necessário um período considerável de tempo para que os genes do trevo vermelho tornem-se adaptados à existência em células com nível de ploidia mais alto (TAYLOR e QUESENBERRY, 1996).

Em culturas como a alfafa, a poliploidização sexual é utilizada como uma maneira de otimizar a heterozigose, especialmente pelo modo bilateral (BINGHAM, 1980), e de possibilitar a introgressão de genes de espécies diplóides silvestres para a alfafa tetraploide cultivada (McCOY e BINGHAM, 1991). Tetraploides, formados por poliploidização sexual bilateral, apresentam maiores valores para os componentes de rendimento de forragem e tamanho de folha e de caule, quando comparados a seus progenitores diplóides, apesar de haver uma diminuição na fertilidade (BARCACCIA *et al.*, 1998). Em batata, tetraploides obtidos por poliploidização sexual apresentam maior produção de tubérculos do que aqueles induzidos por colchicina (PELOQUIN *et al.*, 1989). Nesta cultura, a poliploidização sexual vem sendo utilizada como uma forma de transferir, de espécies selvagens diplóides para a tetraploide cultivada, a resistência ao escurecimento durante a armazenagem a frio (HAYES e TILL, 2002). Uma das dificuldades a serem superadas, para uma utilização mais ampla da poliploidização sexual, é a obtenção de genótipos com as características de interesse e que, ao mesmo tempo, produzam gametas-não reduzidos de forma regular (RAMANNA, 1992). Para que isto seja atingido, há necessidade de seleção para ambos os aspectos.

Considerando a indução de poliploidia em espécies nativas do Rio Grande do Sul, há o caso de *Trifolium riograndense*, uma leguminosa forrageira adaptada aos solos ácidos do Estado. Entre 1982 e 1986, foram realizados trabalhos de

indução de poliploidia na espécie, com o objetivo de obter plantas maiores e para cruzá-las com trevo branco, que é uma espécie naturalmente tetraplóide. Uma característica interessante deste autotetraplóide específico é sua alta produção de sementes férteis (BECKER et al., 1986; SCHIFINO e MORAES-FERNANDES, 1987). Em ensaio a campo, o poliplóide demonstrou ser superior ao diplóide para características como taxa de crescimento em altura no período reprodutivo e comprimento do pedúnculo floral, mas inferior para outras, como crescimento em diâmetro e crescimento dos estolhos ((SOUZA et al., 1988; MORAES et al., 1989). Quando os dois citótipos foram colocados em competição, após alguns anos as plantas tetraplóides desapareceram da área em cultivo (PAIM, comunicação pessoal).

Além da ampla utilização de poliplóides espontâneos em espécies ornamentais, como por exemplo narcisos, tulipas, jacintos (BRANDHAM et al., 1995) e cactos (KARLE et al., 2002), poliplóides induzidos continuam sendo utilizados no

melhoramento de *Tripsacum dactyloides* (SALON e EARLE, 1998), *Trifolium alexandrinum* (1999), orquídeas (SILVA et al., 2000), *Gentiana triflora* (MORGAN et al., 2003), e nos gêneros *Avena* (LADIZINSKY, 2000) e *Rhododendron* (VÄINÖLÄ, 2000), entre muitos outros.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A indução de poliploidia, somática ou sexual, é uma ferramenta importante para o melhoramento genético de diversas plantas, para a obtenção de plantas de tamanho maior, para restauração da fertilidade de híbridos interespecíficos, e como ponte, para a transferência gênica entre níveis de ploidia diferentes. O melhorista deve avaliar qual a técnica adequada aos seus objetivos, e às espécies com que vai trabalhar, levando em consideração que haverá necessidade de uma ampla seleção posterior até sua possível utilização comercial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLOOWALIA, B.S. Colchicine induced polyploids in ryegrass. **Euphytica**, Wageningen, v. 16, p. 49-60, 1967.
- ALLARD, R. W. **Principles of Plant Breeding**. New York: John Wiley e Sons, 1999, 254 p.
- ARMSTRONG J.M.; ROBERTSON, R.W. Studies of colchicine-induced tetraploids of *Trifolium hybridum* L. II. Comparison of characters in tetraploid and diploid. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 2, p. 371-378, 1960.
- ASAY, K.H.; DEWEY, D.R. Bridging ploidy differences in crested wheatgrass with hexaploid x dioploid hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 19, p. 519-523, 1979.
- BARCACCIA, G.; ROSELLINI, D.; FALCINELLI, M. et al. Reproductive behavior of tetraploid alfalfa plants obtained by unilateral and bilateral sexual polyploidization. **Euphytica**, Wageningen, v.99, p.199-203, 1998.
- BECK, S.L.; DUNLOP, R.W.; FOSSEY, A. Stomatal length and frequency as a measure of ploidy level in black wattle, *Acacia mearnsii* (de Wild). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 141, p. 177-181, 2003.
- BECKER, L.C.M.; SCHIFINO, M.T.; PAIM, N.R.; RIBOLDI, J.R. Cytological comparison of diploid and autotetraploid *Trifolium riograndense* Burkart (Leguminosae). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 9, p. 637-643, 1986.
- BINGHAM, E.T. Stomatal chloroplasts in alfalfa at four ploidy levels. **Crop Science**, Madison, v.8, p. 509-510, 1968.
- BINGHAM, E.T. Maximizing heterozygosity in autopolyploids. In: LEWIS, W.H. **Polyploidy: Biological relevance**. New York: Plenum, 1980, p. 471-489.
- BLAKESLEE, H.; AVERY, A.G. Methods of inducing doubling of chromosomes in plants. **Journal of Heredity**, Washington, v. 28, p.393-411, 1937.
- BOAVENTURA, Y.M.S.; MEDINA, D.M.; VIEIRA, M.J.F.R. et al. Número de cloroplastos e nível de ploidia em espécies de *Coffea*. **Revista Brasileira de Botânica**, Ribeirão Preto, v. 4, p. 15-21, 1981.
- BRAGDO, M. Production of polyploids by colchicine. **Euphytica**, Wageningen, v. 4, p. 76-82, 1955.
- BRANDHAM, P.E.; FRASER, E.; WEST, J. DNA amount, polyploidy and selection of decorative monocotyledons. In: BRANDHAM, P.E., BENNET, M.D. **Kew Chromosome Conference IV**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1995, p. 37-46.
- BRETAGNOLLE, F. Pollen production and spontaneous polyploidization in diploid populations of *Anthoxanthum alpinum*. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 72, p. 241-247, 2001.
- BREWBAKER, J.L. Colchicine induction of tetraploids in *Trifolium* species. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, p. 592-594, 1952.
- CARNAHAN, H.L.; HILL, D.H. Cytology and genetics of forage grasses. **Botanical Review**, New York, v. 27, p. 1-162, 1961.
- COOPER, D.C. Artificial induction of polyploidy in alfalfa. **American Journal of Botany**, New York, v. 26, p. 61-67, 1939.

- COVAS, G.; CIALZETA, C. Aloploidie sintético del género *Phalaris*, de posible valor económico como planta forrajera. **Boletim del IDIA**, Castelar, v. 62, p. 8-10, 1953.
- CROWLEY, J.G.; REES, H. Fertility and selection in tetraploid *Lolium*. **Chromosoma**, Berlin, v.24, p. 300-308, 1968.
- DE WET, J.M.J. Origins of polyploids. In: LEWIS, W.H. **Polyploidy: biological relevance**. New York: Plenum. 1980, p. 3-15.
- DEWEY, D.R. Some applications and misapplications of induced polyploidy to plant breeding. In: LEWIS, W.H. **Polyploidy: biological relevance**. New York: Plenum. 1980, p. 445-469.
- DUNBIER, M.W.; ESKEW, D.L.; BINGHAM, E.T. et al. Performance of genetically comparable diploid and tetraploid alfalfa: agronomic and physiological parameters. **Crop Science**, Madison, v. 15, p. 211-214, 1975.
- EIGSTI, O.J.; DUSTIN, P. **Colchicine in agriculture, medicine, biology and chemistry**. Iowa: The Iowa state College Press, 1957. 470 p.
- ELLIOTT, F. **Mejoramiento de plantas- citogenética**. Mexico: Compañía Editorial Continental, 1967, 474 p.
- EVANS, A. M. The production and identification of polyploids in red clover, white clover and lucerne. **The New Phytologist**, Oxford, v. 54, p. 149-162, 1955.
- EVANS, G.M. Polyploidy and crop improvement. **Journal of the Agricultural Society of Wales**, Aberystwyth, v. 62, p. 93-116, 1981.
- GOLDBLATT, P. Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. In: LEWIS, W.H. **Polyploidy: biological relevance**. New York: Plenum, 1980. p. 219-239.
- GRANER, E.A. Polyploid cassava induced by colchicine treatment. **Journal of Heredity**, Washington, v. 32, p. 281-288, 1941.
- GRANER, E.A. Tratamento de mandioca pela colchicina. I. Nota preliminar sobre poliploidia indicada pela diferença de tamanho dos estômatos. **Jornal de Agronomia**, Piracicaba, v. 3, p. 83-98, 1940.
- GRIFFITHS, A.J.F.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T. et al. **An introduction to genetic analysis**. New York: W. H. Freeman, 2000. 860 p.
- HARLAN, J.R.; DE WET, J.M.J. On Ö Winge and a prayer: the origins of polyploidy. **The Botanical Review**, New York, v.41, n.4, p.311-390, 1975.
- HAZARIKA, M.H.; REES, H. Genotypic control of chromosome behavior in rye. X. Chromosome pairing and fertility in autotetraploids. **Heredity**, Essex, v. 22, p. 317-332, 1967
- HAYES, R.J.; THILL, C.A. Introgression of cold (4C) chipping from 2x (2 Endosperm Balance Number) potato species into 4x (4EBN) cultivated potato using sexual polyploidization. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 79, p. 241-431, 2002.
- HERMSEN, J.G.T. The potential of meiotic polyploidization in breeding allogamous crops. **Iowa Sate Journal of Research**, Ames, v.58, n.4, p. 435-448, 1984.
- HILU, K. W. Polyploidy and the evolution of domesticated plants. **American Journal of Botany**, St. Louis, v.80, p. 1494-1499, 1993.
- HUTTON, E.M. Some effects of induced autopolyploidy in white clover, barrel medics and wimmera ryegrass. **Journal of the Australian Institute of Agricultural Science**, Sydney, v. 23, p. 227-231, 1957.
- KARLE, R.; PARKS, C.A.; O'LEARY, M. et al. Polyploidy-induced changes in the breeding behavior of *Hatiora x graeseri* (Cactaceae). **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 127, p. 397-403, 2002.
- LADIZINSKY, G. A synthetic hexaploid (2n=42) oat from the cross of *Avena strigosa* (2n=14) and domesticated *A. magna* (2n=28). **Euphytica**, Wageningen, v. 116, p. 231-235, 2000.
- LEITCH, I.J.; BENNET, M.D. Polyploidy in angiosperms. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 2, p. 470-476, 1997.
- LEVAN, A. Plant breeding by induction of polyploidy and some results in clover. **Hereditas**, Lund, v. 28, p. 245-246, 1942.
- LEWIS, W.H. **Polyploidy: biological relevance**. New York: Plenum, 1980, 583 p.
- MADHUSOODANAN, K.J.; ARORA, O.P. Induced autotetraploidy in *Matricaria chamomilla* L. **Cytology**, Tokyo, v. 44, p. 227-232, 1979.
- McCOY, T.J.; BINGHAM, E.T. Alfalfa cytogenetics In: TSUCHIYA, T.; GUPTA, P.K. **Chromosome engineering in plants: genetics, breeding, evolution**. Part B. Amsterdam: Elsevier. 1991, p. 399-418.
- MORAES, C.O.C.; PAIM, N.R.; NABINGER, C. Avaliação de leguminosas do gênero *Trifolium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 813-818, 1989.
- MORGAN, E.R.; HOFMANN, B.L.; GRANT, J.E. Production of tetraploid *Gentiana triflora* var. *japonica* 'Royal Blue' plants. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, Auckland, v. 31, p. 65-68, 2003.
- MÜNTZIG, A. Problems of allopolyploidy in *Triticale*. In: LEWIS, W.H. **Polyploidy: biological relevance**. New York: Plenum. 1980, p. 409-425.
- MURRAY, B.G. Trees, maps and FISH: the application of genome based technologies to the analysis of chromosome evolution. **Current Genomics**, Sharjah, v. 3, p. 539-550, 2002.
- NEBEL, B.R.; RUTTLE, M.L. **Colchicine and its place in fruit breeding**. Geneva: New York State Agricultural Experiment Station, 1938. 19 p. Circular 183.
- NELSON, A.D.; ELISENS, W.J. Polyploid evolution and biogeography in *Chelone* (Scrophulariaceae): morphological and isozyme evidence. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 86, p. 1487-1501, 1999.
- OSBORN, T.C.; PIRES, J.C.; BIRCHLER, J.A. et al. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. **Trends in Genetics**, Oxford, v. 19, p.141-147, 2003.
- ÖSTERGREN, G. Polyploids and aneuploids of *Crepis capillaris* produced by treatment with nitrous oxide. **Genetica**, Dordrecht, v.27, p. 54-64, 1954.

- ÖSTERGREN, G. Production of polyploids and aneuploids of *Phalaris* by means of nitrous oxide. **Hereditas**, Lund, v.11, p. 287-290, 1957.
- OTTO, S.P.; WHITTON, J. Polyploid incidence and evolution. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v.34, p. 401-437, 2000.
- PELOQUIN, S.J.; JANSKY, S.H.; YERK, G.L. Potato cytogenetics and germplasm utilization. **American Potato Journal**, Madison, v.66, p.629-638, 1989.
- PETERSEN, K.K.; HAGBERG, P.; KRISTIANSEN, K. *In vitro* chromosome doubling of *Miscanthus sinensis*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 121, p. 445-450, 2002.
- RAGUVANSHI, S.S.; PATHAK, C.S. Polyploid breeding and possibility of raising double varieties in *Phlox drummondii*. **Cytologia**, Tokyo, v. 40, p. 355-363, 1975.
- RAMANNA, M.S. The use of 2n gametes in breeding polysomic polyploid species: some achievements and perspectives. In: MARIANI, A.; TAVOLETTI, S. **Gametes with somatic chromosome number in the evolution and breeding of polyploid polysomic species**: achievements and perspectives. Perugia: Forage Plant Breeding Institute, 1992. p. 91-99.
- RAMANNA, M.S.; JACOBSEN, E. Relevance of sexual polyploidization for crop improvement. **Euphytica**, Wageningen, v. 133, p. 3-8, 2003.
- RAMSEY, J.; SCHEMSKE, D.W. Pathways, mechanisms and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v.29, p.467-501, 1998.
- RAMSEY, J.; SCHEMSKE, D.W. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v.33, p. 589 -639, 2002.
- SALON, P.R.; EARLE, E.D. Chromosome doubling and mode of reproduction of induced tetraploids of eastern gamagrass (*Tripsacum dactyloides* L.). **Plant Cell Reports**, Heidelberg, v. 17, p. 881-885, 1998.
- SÁUCO, V.G.; MARTÍN, M.J.G.; GALVÁN, D.F. et al. Occurrence of spontaneous tetraploid nucellar mango plants. **Hortscience**, Alexandria, v. 36, p. 755-757, 2001.
- SCHIFINO, M.T.; MORAES-FERNANDES, M.I.B. Induction of polyploidy and cytological characterization of autotetraploids of *Trifolium riograndense* Burkart (Leguminosae). **Euphytica**, Wageningen, v. 36, p. 863-872, 1987.
- SCHIFINO-WITTMANN, M.T. Determinação da quantidade de DNA nuclear em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p. 897-902, 2001.
- SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; DALL'AGNOL, M. Gametas não-reduzidos no melhoramento de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, p. 169-175, 2001.
- SEGRAVES, K.A.; THOMPSON, J.N.; SOLTIS, P.S.; SOLTIS, D.E. Multiple origins of polyploidy and the geographic structure of *Heuchera grossularifolia*. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, p. 253-262, 1999.
- SEN, N.K.; CHHEDA, H.R. Colchicine induced tetraploids of five varieties of black gram. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v. 18, p. 238-245, 1958.
- SHARBEL, T.F.; MITCHEL-OLDS, T. Recurrent polyploid origins and chloroplast phylogeography in the *Arabidopsis holboellii* complex (Brassicaceae). **Heredity**, Essex, v. 87, p. 59-68, 2001.
- SILVA, P.A.K.X.M.; CALLEGARI-JACQUES, S.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Induction and identification of polyploids in *Cattleya intermedia* Lindl. (Orchidaceae) by *in vitro* techniques. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, p. 105-111, 2000.
- SIMMONDS, N.W. Polyploidy in plant breeding. **Span**, London, v.23, p. 73-75, 1980.
- SIMONSEN, O. Cytogenetic investigation in diploid and autotetraploid populations of *Lolium perenne* L. **Hereditas**, Lund, v. 75, p. 157-188, 1973.
- SINGH, A.K. Polyploid breeding in *Portulaca grandiflora* L. **Cytologia**, Tokyo, v. 44, p. 167-174, 1979.
- SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P. S. The dynamic nature of polyploid genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, New York, v. 92, p. 8089-8091, 1995.
- SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. **Trends in Ecology and Evolution**, Oxford, v.14, p. 348-352, 1999.
- SOUZA, E.H.; PAIM, N.R., SCHIFINO, M.T. et al. Caracterização morfológica e fisiológica das formas diplóide e tetraplóide de *Trifolium riograndense* em comparação com *Trifolium repens* e *Trifolium polymorphum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 599-607, 1988.
- STEBBINS, G.L. Genetics, evolution and plant breeding. **Indian Journal of Genetics and plant Breeding**, Delhi, v. 17, p. 129-141, 1957.
- STEBBINS, G.L. **Chromosomal evolution in higher plants**. Reading: Addison-Wesley, 1971. 216 p.
- SYBENGA, J. **Cytogenetics in plant breeding**. Berlin: Springer, 1992. 469 p.
- TAYLOR, N.L.; ANDERSON, M.K.; QUESENBERRY, K.H. et al. Doubling the chromosome number of *Trifolium* species using nitrous oxide. **Crop Science**, Madison, v. 16, p. 516-518, 1976.
- TAYLOR, N.L.; QUESENBERRY, K.H. **Red Clover Science**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. 226 p.
- UFL. **Melancias sem sementes**. Boletim Técnico de Hortaliças 44, Universidade Federal de Lavras, 1999. Disponível em: <www2.ufla.br/~wrmaluf/bth044/bth044.html>. Acesso em: 10/10/2003.
- VÄINÖLÄ, A. Polyploidization and early screening of *Rhododendron* hybrids. **Euphytica**, Wageningen, v. 112, p. 239-244, 2000.
- WENDEL, J.F. Genome evolution in polyploids. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 42, p. 225-249, 2000.
- WOLFE, K.H. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. **Nature Reviews Genetics**, New York, v.2, p. 333-341, 2001.